

Zur enzymhistochemischen Alterbestimmung
gedeckter Hirnrindenverletzungen, dargestellt
an sauer und alkalischer Phosphatase

Tobias Neuhann

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548319_0016

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der
Ludwig-Maximilians Universität München

Direktor: Prof. Dr. Spann

Zur enzymhistochemischen Altersbestimmung
gedeckter Hirnrindenverletzungen, dargestellt
an saurer und alkalischer Phosphatase

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig Maximilians Universität
zu München

vorgelegt von

Tobias Neuhann

aus München

1978



Mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Dr. med. habil. Eisenmenger

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Spann

Dekan: Prof. Dr. med. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Mai 1980



INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

- 1. Medizinische und juristische Aspekte der Schädelhirntraumen.
- 1.1. Problematik des Nachweises der vitalen Reaktion.
- 1.2. Entwicklung der Enzymhistochemie bei der Altersbestimmung von Wunden.
- 1.3. Forderungen an die Methodik.

B. ENZYM HISTOCHEM. UNTERSUCHUNGEN

- 2.0.0. Material
- 2.1.0. Entnahmetechnik
- 2.2.0. Schnellgefrierkammer
- 2.2.1. Problematik der Kristallbildung.
- 2.2.2. Lösung dieses Problems.
- 2.3.0. Lagerung und Identifizierung der gewonnenen Proben.
- 2.4.0. Bearbeitung
- 2.4.1. Gefrierschneidemethode und Schnittdicke.
- 2.4.2. Probleme beim Schneiden und die von uns angewandte Technik.
- 2.4.3. Aufziehen der Schnitte auf den Objektträger.
- 2.5.0. Färben der Schnitte, schematische Darstellung.

- 2.5.1.0. die saure Phosphatase (sPh)
Eigenschaften und pH - Optimum.
- 2.5.1.1. Vorkommen und Lokalisation.
- 2.5.1.2.0. Nachweismethoden
- 2.5.1.2.1. Gomorityp
- 2.5.1.2.2. Indoxylphosphatmethode
- 2.5.1.2.3. Azokupplungsmethode
- 2.5.1.2.4. unsere bevorzugte Methode.
- 2.5.2.0. die alkalische Phosphatase (aPh)
Eigenschaften und pH - Optimum.
- 2.5.2.1. Gomorityp
- 2.5.2.2. Indoxylphosphatmethode
- 2.5.2.3. Azokupplungsreaktion
- 2.5.2.4. unsere Darstellungsmethode.

C. E R G E B N I S S E

- 3.1. pathologische Stadieneinteilung der Rinden-
prellungsherde als Basis zur Auswertung
der Ergebnisse.
- 3.2. Prädeliktionsstellen von gedeckten Hirn-
rindenverletzungen.
- 3.3. Einteilung in Gruppen nach Überlebenszeit.
- 3.4.0. eigene Befunde bei Anwendung der sPh
bei Normalbefund.
- 3.4.1. bei Gruppe 1
- 3.4.2. bei Gruppe 2
- 3.4.3. bei Gruppe 3
- 3.4.4. bei Gruppe 4

- 3.4.5. bei Gruppe 5
- 3.4.6. bei Gruppe 6
- 3.4.7. bei Gruppe 7
- 3.4.8. bei Gruppe 8
- 3.4.9. bei Gruppe 9
- 3.5.0. eigene Befunde bei Anwendung der aPh
bei Normalbefund.
- 3.5.1. bei Gruppe 1
- 3.5.2. bei Gruppe 2
- 3.5.3. bei Gruppe 3
- 3.5.4. bei Gruppe 4
- 3.5.5. bei Gruppe 5
- 3.5.6. bei Gruppe 6
- 3.5.7. bei Gruppe 7
- 3.5.8. bei Gruppe 8
- 3.5.9. bei Gruppe 9

D. D I S K U S S I O N

- 4. Hinweis auf Untersuchungen unter dem speziellen
Aspekt der zeitlichen Grenzwertbestimmung.
- 4.1. Problemstellung
- 4.2. Nachweisproblematik der vitalen Reaktion.
- 4.3. Einfluß der postmortalen Liegezeit.
- 4.4.1. Darstellung von Ergebnissen verschiedener
Autoren, die mit der sPh gearbeitet haben.
- 4.4.2. Vergleichende Darstellung unserer Ergebnisse.
- 4.4.3. besondere Qualitäten der sPh.

- 4.5.1. Darstellung von Ergebnissen verschiedener Autoren, die mit der aPh gearbeitet haben.
- 4.5.2. Vergleichende Darstellung unserer Ergebnisse mit denen von Punkt 4.5.1.
- 4.5.3. Qualitäten und Schwierigkeiten bei der Beurteilung der aPh Aktivität.
- 4.6. kritische Betrachtung enzymhistochemischer Nachweismethoden und Schlußfolgerung für die praktische Anwendung zur Altersbestimmung gedeckter Hirntraumen.

1. In der gerichtlichen Medizin werden heute zunehmend moderne wissenschaftliche Arbeitsmethoden angewandt, um Schädel-Hirntraumen zu begutachten. Denn diesen Traumen kommt auf Grund der erschreckenden Zunahme schwerer Hirnverletzungen im heutigen Strassenverkehr immer größere Bedeutung zu. Und die Kriminalistik ist, als juristische Hilfswissenschaft, besonders am zeitlichen Ablauf von Gewalteinwirkungen, z. B. bei Verbrechen, interessiert. Deshalb tritt in der forensischen Medizin, zur Beantwortung traumatologischer und thanatologischer Fragen, die physikalische, chemische, biochemische, und enzymhistologische Analyse ergänzend zur morphologischen Betrachtung hinzu.
1. 1. Die gesundheitlichen Folgen eines Schädel-Hirntraumas ziehen auch häufig juristische Folgen nach sich. Hierbei geht es in erster Linie um die strafrechtliche Ahndung von Verstößen gegen die bestehenden Gesetze, aber auch um sozial- und zivilrechtliche Forderungen. Auch im Versicherungsrecht spielt die zeitliche Abfolge von Verletzungen eine Rolle. Treten z.B. mehrere Schädel-Hirntraumata zeitlich kurz nacheinander ein, und treten bei keinem dieser Traumen sekundäre Folgen auf, z. B. eine akute Blutung, dann kann der Frage, welches dieser Traumata einen bleibenden Schaden gesetzt hat, wesentliche Bedeutung zukommen.

Es ist demnach eine wichtige Aufgabe der Rechtsmedizin, Möglichkeiten und Grenzen der Altersbestimmung von Hirnrindenverletzungen darzustellen.

1. 2. Die Idee, enzymhistochemische Methoden in der gerichtlichen Medizin zur Abklärung vitaler Reaktionen und zur Wundalterbestimmung einzusetzen, stammt von RAEKALLIO (26).

Bis in die dreissiger Jahre dieses Jahrhunderts wurde die Frage der vitalen Reaktion überwiegend makroskopisch beurteilt. Erst die Untersuchungen von WALCHER (35) in der mikroskopischen Dimension, eröffneten erstmals, feingewebliche Untersuchungen zur Beurteilung der vitalen Reaktion und der Altersbestimmung von Wunden heranzuziehen.

Durch eine große Zahl von Forschern wie RUSSELL, MASSHOFF, ALLGÖWER, LINDNER, ZOLLINGER, PROKOP und RAEKALLIO, um nur einige zu nennen, wurden die Untersuchungen auf dem Gebiet der Wundheilung, und damit direkt und indirekt, auch auf dem Gebiet der Altersbestimmung von Wunden, vorangetrieben.

RAEKALLIO ging davon aus, daß jeder mikroskopisch erkennbaren reparativen Veränderung eine reaktive Stoffwechseleränderung vorausgehe und daß diese mittels enzymhistochemischer Methoden sichtbar gemacht werden könnte.

Er untersuchte das Verhalten der alkalischen und sauren Phosphatase, der Adenosintriphosphate, der Amino-peptidase, der unspezifischen Esterasen, der beta - Glucuronidasen, der Transferasen und der Oxireduktasen. Mit seinen Untersuchungen konnte er zeigen, daß bei Hautwunden schon nach weniger als einer Stunde nach dem Trauma, bestimmte Enzyme charakteristische Reaktionen aufweisen.

RAEKALLIO wies auch darauf hin, daß ähnliche Untersuchungen, wie er sie an Hautwunden unternahm, auch für andere Gewebe wünschenswert seien.

Mit einer ganz anderen Fragestellung untersuchte COLMANT (4) die Enzymhistochemie des Rattengehirns nach experimentell gesetzten hypoxämischen Schädigungen.

KREUTZBERG und PETERS (14) studierten enzymhistochemische Veränderungen bei experimentellem Hirntrauma.

Die einzelnen Befunde dieser Veröffentlichungen sollen jedoch an anderer Stelle mit Ergebnissen unserer eigenen Untersuchungen diskutiert werden. Es sei hier nur aufgezeigt, daß enzymhistochemische Veränderungen am Gehirn von Tieren durchaus festgestellt worden waren. Deshalb versprach die Untersuchung menschlichen Obduktionsmaterials im Hinblick auf die spezielle Frage der Altersbestimmung von ge-

deckten Hirnrindenverletzungen eine Erweiterung der forensischen Möglichkeiten.

1. 3. Mit Hilfe der sauren und alkalischen Phosphatase sollte nun auf enzymhistochemischem Wege versucht werden, gedeckte Hirntraumen, die intra vitam entstanden sind, post mortem auf ihr Verletzungsalter zu prüfen. Gleichzeitig sollte darauf geachtet werden, daß die dabei angewandten Methoden jederzeit gut nachvollziehbar sind, und daß die nötigen Vorarbeiten des eigentlichen Untersuchungsganges von Hilfspersonal erbracht werden können. Die apparativen Voraussetzungen beschränken sich auf eine Anlage zur Herstellung von Gefrierschnitten, also Geräten, die auch im normalen Routinebetrieb eines rechtsmedizinischen Institutes Verwendung finden. Auch die enzymhistochemischen Färbungen entsprechen bekannten Methoden, wie sie z. B. auch PIOCH (25) bei seinen Untersuchungen über die zeitliche Abfolge von Enzymveränderungen nach thermischen Hautschäden benutzte.

2. 0. 0. Das Untersuchungsmaterial, d. h. die 76 Hirngewebsproben, entnahmen wir dem Obduktionsgut der Jahre 1975 und 1976, über alle Jahreszeiten verteilt. Die Altersverteilung erfaßte alle Altersgruppen männlichen und weiblichen Geschlechts, in zufälliger Verteilung.

2.1.0. Entsprechend dem Routinegang der Obduktion, wurden die Gehirne zunächst der Schädelhöhle in toto entnommen und in Frontalscheiben zerlegt. Die Diagnose einer möglichen Hirnrindenverletzung wurde unter Berücksichtigung bekannter makroskopischer Veränderungen gestellt. Aus den Frontalscheiben wurden dann Gewebstücke mit ein bis zwei Hirnwindungen entnommen, in deren Bereich kuppenständige Blutungen erkennbar waren. Aus der unverletzten Hemisphäre wurde zu Vergleichszwecken an korrespondierender Stelle ebenfalls ein Gewebsteil entnommen.

2.2.0. Diese aus den Frontalscheiben gewonnenen Proben wurden dann in einer Schnellgefrierkammer an einer Kohlendioxydflasche tiefgefroren. Dieser Schritt mußte möglichst schnell und schonend geschehen, um nicht die Gehirnzellen und ihre Bestandteile, respektive die Aktivitäten der einzelnen Enzyme artefiziell zu verändern.

2.2.1. Beim Einfrieren kann es zur Bildung von Eiskristallen kommen, was einmal abhängt von der Zahl der in einer Zeiteinheit gebildeten Kristallisationskeime (= Kristallisationszahl N) und zum anderen von der Kristallisationsgeschwindigkeit V .

Einen maßgeblichen Einfluß auf die Größe dieser beiden Werte haben die Konzentrationen der zu gefrierenden Gewebe und die Art der gelösten Salze und vor allem die Temperatur. (GOETZ 1938, MATZ 1954).

Die Kristalle, die sich zu Beginn der Untersuchungen in einigen Proben zeigten, waren umso größer, je länger kristallisierte und nicht gefrorene Phase nebeneinander bestanden. Da größere und kleinere Eiskristalle zu Zerreißen des Gewebes in mikroskopischen und makroskopischen Dimensionen führten, kam es also darauf an, den Temperaturbereich zwischen + 20 Grad C und - 20 Grad Celsius so schnell wie möglich zu durchschreiten.

2.2.2. Die Eiskristallbildung wog bei unseren Untersuchungen sehr schwer, weil Strukturveränderungen eine Beeinflussung der chemischen Zusammensetzung und eine Dislokation einzelner Komponenten des Gewebes möglich machen. Deshalb versuchten wir mit sehr gutem Erfolg die beschriebene Einfriermethode, um durch möglichst schnelles Einfrieren die ungewollte Kristallbildung und Artefaktbildung zu vermeiden.

2.3.0. Im Anschluß an das Einfrieren wurde der Gewebsblock in eine Plastikhülle luftdicht eingeschweißt, um eine Dehydratation zu vermeiden, und beschriftet. Dann gaben wir die Gewebeproben in eine Tiefkühltruhe mit - 20 Grad Celsius, um keinerlei Aktivitätsverlust hinnehmen zu müssen. WINKLER (37) gibt an, daß eine Lagerung dieser Art sogar mehrere Wochen möglich ist, ohne daß Aktivitätsveränderungen eintreten. Auf einer eigens angelegten Kartei hielten wir dann folgende Daten fest:

- 1.) Die fortlaufende Sektionsnummer zur Identifizierung
- 2.) Zeitpunkt des Traumas
- 3.) Eintritt des Todes und Überlebenszeit
- 4.) Zeitpunkt der Einlieferung, Einbringen der Leiche in die Kühlkammer.
- 5.) Zeitpunkt der Obduktion.

2.4.0. Die Gefrierschnitte und die Färbungen wurden meist am nächsten Tage oder nach einigen Tagen angefertigt. Die geforenen Gewebsblöcke wurden dann der Tiefkühltruhe entnommen und auf dem Objektisch des Kryostaten der Marke "Cryo Cut" mit Hilfe eines temperaturabhängigen Klebstoffes so fixiert, daß sich ein erneutes Auf- und Anfrieren erübrigte.

2.4.1. Die Kryostatmethode, welcher wir uns bedienten, wurde von LINDENSTRÖM - LANG und MOGENSEN 1938 eingeführt und von COONS, LEDUC und PEARCE 1961 weiterverbessert.

Der Kryostat ist eigentlich nichts anderes als ein Kühlapparat mit einem eingebauten Mikrotom, bei dem die gewünschte Schnittdicke eingestellt werden kann. Unsere Schnittdicke lag anfänglich bei $14\ \mu$, wobei wir dann nach längerer Erfahrung bis auf eine Schnittdicke von $10\ \mu$ heruntergingen. Dies erbrachte eine feinere Darstellung, da bei dünneren Schnitten die Diffusionswege der zum Nachweis benötigten Substanzen kürzer werden. Die Schneidetemperatur erwies sich bei -10 Grad Celsius am günstigsten.

2.4.2. Entsprechend lang mußte das aus -20 Grad C entnommene Gewebe adaptiert werden. Liegt die Schneidetemperatur zu tief, etwa bei -20° Celsius, dann zerreißen die Schnitte. Liegt die Temperatur zu hoch, dann sind die Gewebsblöcke zu weich, und ein sauberer Schnitt ist dann nicht mehr möglich. Beim Schneiden selbst ist darauf zu achten, daß neben einem scharfen Messer das Streckglas den höchsten Punkt der Messerfacette nur minimal überschreiten darf, und daß die Wahl des Winkels zwischen Messer und Gewebsteil richtig eingestellt sein muß.

Sind die Schnitte gewellt oder waschbrettartig geriffelt, so ist der Abstand zwischen Messer und Streckglas zu groß. Treten Risse in den Schnitten auf, so kann dies auf Scharten im Messer oder an zu tiefen Temperaturen im Kryostaten liegen.

2.4.3. Nach dem Schnitt bleibt in der Regel das geschnittene Gewebspräparat am Mikrotom haften. Zum Aufziehen des Schnittes auf einen Objektträger hält man einen zimmerwarmen und sauberen Objektträger an den Schnitt heran. Die Schnitte tauen dann sofort auf und haften. Anschließend läßt man das so gewonnene Präparat an der Luft trocknen und färbt es.

2.5.0. 1938 erkannte RICHTERICH, daß den morphologischen Veränderungen funktionelle Änderungen in der Zelle und im Gewebe vorausgehen. Dies ist auf Enzyme zurückzuführen. Der Nachweis dieser Substanzen bzw. ihrer Aktivitäten kann sowohl biochemisch als auch histochemisch erbracht werden. PEARCE schreibt hierzu: "Die Histochemie versucht Struktur und chemische Komposition mit der Funktion zu korrelieren." Und eben dies ist auch das Bestreben dieser Arbeit, die sich mit den Hydrolasen beschäftigt. (8)

Schematisch katalysieren Hydrolasen folgende Reaktion:



Wir beschäftigen uns mit den Hydrolasen von Phospho-
monoestern, nämlich der alkalischen Phosphatase und
der sauren Phosphatase.

Diese beiden gehören bei den Phosphatasen zu den
häufigst untersuchten Enzymen.

2.5.1.0. Die saure Phosphatase (sPH)

Untersuchungen von GOMORI, PEARCE (21) und NOVIKOFF
zeigten, daß die sPH kein so "robustes" Enzym ist,
wie etwa die alkalische Phosphatase. Einbettung und
Fixation beeinträchtigen einen Großteil der Aktivi-
tät (8). Das Enzym katalysiert im sauren Milieu die
Spaltung von Estern der Orthophosphorsäure mit ver-
schiedenen Alkoholen und Phenolen nach folgendem
Schema (15).



Zu den Eigenschaften der sPH gehört, daß sie durch
 Mn^{2+} Ionen aktiviert wird. Das pH Optimum liegt
zwischen 4 und 5. Inhibitoren sind Fluorid- und
Phosphationen, sowie Cu^{2+} und Titrationen.

2.5.1.1. Die SPH ist überwiegend an die sogenannten Lyso-somen der Zellen gebunden. Dies zwingt zu einer Vorbehandlung des Gewebes. Eine hohe Aktivität findet sich in den Pyramidenzellen des Kortex. Die Glia läßt sich mit der sPH-Färbung kaum darstellen, eine Untersuchung ihrer verschiedenen Zellarten ist daher nicht möglich. Das Neuropil dagegen färbt sich an, Aktivitätsveränderungen können differenziert werden. Großhirnkörnerzellen zeigen ebenfalls eine hohe sPH-Aktivität, wenn sie vorhanden sind. Mesenchymale Strukturen hingegen weisen nur eine geringe Aktivität auf.

2.5.1.2.0. Zum Nachweis der sPH stehen uns dem Prinzip nach drei Methoden zur Verfügung:

Die Metallsalzmethode, die Indoxylphosphat- und die Azofarbstoffmethode.

2.5.1.2.1. COLMANT (4) beschrieb die Metallsalzmethode als eine "oft launische Methode", die wiederholt eine falsche Lokalisation des Enzyms bei frischem und fixiertem Gewebe zuläßt. Andere Autoren bezeichnen dies als "Bleieffekt". (NOBACK + PFAFF).

2.5.1.2.2. Eingehende Untersuchungen mit der Indoxylphosphatmethode sind bisher nur spärlich erschienen, und auch DEANE, BARNETT und SELIGMANN bezweifeln, daß mit dieser Methode brauchbare Ergebnisse erzielt werden können.

2.5.1.2.3. Wir entschieden uns deshalb für die Azofarbstoffmethode, die als erster YIN beschrieb (8). Naphtolkomplexe und Anilinsäurederivate wurden synthetisiert und für die histochemische Darstellung der sPH gebraucht (BURSTONE) (8).

Als Nachteil bei dieser Methode empfanden wir jedoch die starke Luftblasenbildung, die sich bei der Einbettung mit dem Gelatinol zwischen Objektträger und Deckglas entwickelte. Trotzdem war jedoch eine objektive und exakte Begutachtung der Präparate möglich.

2.5.1.2.4. Unsere Darstellungsmethode war:

- a) 0,8 ml 4% Pararosanilin (gelöst in 2n HCL bei +4°C)
- 0,8 ml 4% NaNO_2 Lösung (in aqua bidest gelöst)
- kurz vor Gebrauch im kalten Reagenzglas mischen

b) 20 mg Alpha-Naphtylphosphat

13 ml Bidest

5 ml Veronal Acetatpuffer 0,1 mol

a + b zusammengeben, mit 1n NaOH auf pH 6,5 einstellen. Die Schnitte bei Raumtemperatur 60 min. inkubieren, waschen in aqua dest; 3 min. mit Sulfanilsäure behandeln, waschen in aqua dest., eindecken mit Gelatinol.

2.5.2.0. Die alkalische Phosphatase (aPH)

Im basischen Bereich katalisiert dieses Enzym die Spaltung von Estern der Orthophosphorsäure mit verschiedenen Alkoholen und Phenolen.

Das pH Optimum der aPH liegt im Bereich von 9,2 - 9,8, wobei dies auch von der Art und Konzentration des Substrates und dem Puffer abhängig ist. Gehemmt wird dies Enzym durch Tetramisol und seinen Analogen. Man findet das Enzym in all den Zellmembranen, in denen aktive Transportvorgänge stattfinden. Uns interessierten vor allem diese Vorgänge im Kapillar- und Arteriolenendothel des Kortex.

2.5.2.1. Zum Nachweis der aPH kennt man die von ROBINSON vorgeschlagene und von GOMORI ausgearbeitete Metallsalzmethode (8).

Doch GOMORI selbst war es, der wenig später diese Methode kritisierte, weil bei der Paraffineinbettung 75% der enzymatischen Aktivität zerstört wurde und weil die intensive Reaktion der Zellkerne in vielen Fällen auf eine falsche positive Reaktion zurückgeht.

2.5.2.2. Die Indoxylphosphatmethode, die nur von wenigen Autoren bisher angewandt worden ist, war eine zweite Möglichkeit der Darstellung der aPH. Da jedoch nach PEARCE (21) die Lokalisation dieses Enzyms bei dieser Methode unbefriedigend ist, verwarfen wir diese Möglichkeit der Darstellung.

2.5.2.3. Die dritte Methode beruhte auf der Azokupplungsreaktion. Das Prinzip besteht in der Ausfällung und Anfärbung einer enzymatisch freigesetzten Phenolverbindung durch eine Diazoniumverbindung. Hierbei entsteht ein löslicher Farbstoff. Die Vorteile der simultanen Azokupplung liegen besonders da, wo unspezifische Verfärbungen vermieden wurden (BURSTONE) (8).

Außerdem bestand hierbei die Möglichkeit relativ kurze Inkubationszeiten zu verwenden, was die falsche Lokalisation des Enzyms weitgehend ausschloß. BARKA, PEARCE, ANDERSON (1) und GROGG sind sich darüber einig, daß die Azokupplungsmethode für den Nachweis der unspezifischen aPH als Methode der Wahl anzusehen ist.

2.5.2.4. Zur Darstellung wandten wir folgende

Methode an:

10 mg Alpha-Naphtylphosphat

40 ml 0,1 mol Veronalpuffer pH 9,2 - 9,4 (mit 1n HCL einstellen)

80 mg Variaminsalz VB (fast blue) Gemisch filtrieren

Schnitte 10 min. in Formol Calcium fixieren,

in aqua bidest waschen, 10 min. bei Raumtemperatur

inkubieren, waschen in aqua bidest, 3 min. mit

Sulfanilsäure behandeln, waschen in aqua bidest

und eindecken mit Gelatinol. (3 : 1 verdünnt)

(erst Naphtylphosphat im Puffer lösen, anschließend Variaminsalz hinzugeben).

Lösung: Formol Calcium: 4% Lösung von Formalin

100 ml + 1g CaCl_2 (wasserfrei)

CaCO_3 (im Überschuß)

Veronalpuffer: (Veronal-Na Lösg.) 0,1 mol

20,6 ad 1000 ml bidest

Sulfanilsäure: gelöst in 10% Essigsäure,

(MG 173,19) 1%ige = 10 g ad 1000 ml 10% Essig-
säure (10 ml Eisessig + 90 ml a.d.)

Salzsäure: 1 n = 10 ml HCL spez. Gewicht

1,19 + 90 ml aqua bidest.

Die Frage, ob Kontrollreaktionen, wie Inkubation aktueller Schnitte mit Medium ohne Substrat oder Inkubation von hitzeinaktivierten Schnitten mit vollständigem Medium durchgeführt werden sollten, verneinten wir, da es sich um erprobte Verfahren handelte und die normale Färbung hinreichend bekannt war und außerdem anhand der parallel durchgeführten Färbung der korrespondierenden unverletzten Hirnareale beurteilt werden konnte.

Ergebnisse

3.1. Der frische Rindenprellungsherd ist zu Beginn, bevor sich eine Nekrose manifestieren kann, an den petechialen Blutungen, den Rhexisblutungen sichtbar. Die Blutungen treten unmittelbar nach der Gewalteinwirkung auf, ebenso wie die oft über den Herden nachzuweisenden subarachnoidalen Blutungen. (PETERS) (21). Die Kontusionsherde werden nur in den an der Oberfläche liegenden Windungen angetroffen. Befinden sich zwei Rindenprellungsherde nebeneinander, d. h., an benachbarten Windungskuppen, dann bleibt das zwischen ihnen liegende Windungstal erhalten. (Isoliertes Tal - SPATZ) (32).

Die totale Nekrose demarkiert sich nach PETERS (22) von etwa der 12. Stunde an. Sie besitzt Mulden- oder Keilform, deren Basis zur Hirnoberfläche zeigt und deren Keilspitze oft bis ins Marklager reicht. Diesen Zustand nennt der Pathologe das 1. Stadium, das der Blutungen und Nekrose.

Ihm folgt das 2. Stadium der Resorption und Organisation. Nach nicht ganz einer Woche beobachtet man Gefäßbindegewebswucherungen am Rande der Nekrose. Vom Herdrand aus beginnen Gefäße in die Verletzung einzuwandern (Organisation). Aus Zellen der Gefäßwände und der Glia bilden sich Fettkörnchenzellen, die sich zwischen den Gefäßwucherungen manifestieren.

Der Übergang vom 2. zum 3. Stadium ist damit gegeben, daß die Maschen des bindegewebigen Netzwerkes durch Untergang der Körnchenzellen größer werden. Am Ende dieses Vorganges bleiben bindegewebige Stränge und Faserglia. Der ganze Defekt wird dann häufig von einer verdickten Arachnoidea überzogen.

3.2. Prädilektionsstellen der Rindenprellungsherde sind:

- 1.) Basis des Großhirns, besonders der Stirnlappen
 - 2.) Orte, wo die Liquorräume nur spaltförmig sind
 - 3.) Orte, wo die Gewalteinwirkung stattfand und die ihr entgegengesetzte Stelle (contre - coup)
- Der état vermoulu, von DOUGHERTY (5) und PIERRE MARIE (19) als eigenes Krankheitsbild beschrieben, ist nichts anderes, als eine Spätfolge von Rindenkontusionen. SPATZ (31) vermittelte hierzu grundlegende Kenntnisse in seiner Veröffentlichung über die Bedeutung des "état vermoulu".

3.3. Zur Darstellung der Untersuchungsergebnisse schien es angebracht, auch im Hinblick auf die forensische Fragestellung, die beobachteten Veränderungen der 76 untersuchten Fälle in zeitlich abgegrenzten Gruppen einander gegenüberzustellen.

Die Gruppe 1 umfasst die 13 Fälle, in der der exitus sofort nach dem Trauma eingetreten ist und es werden somit hier nur solche Veränderungen erfasst, die dem intermediären Leben der Zellen zwischen klinischem Tod und individuellem Zelltod zugerechnet werden können.

Die Gruppe 2 beschreibt jene 16 Fälle, bei denen die Betroffenen nicht sofort nach dem Trauma verstarben, sondern dieses bis zu zwei Stunden überlebten. Diese Fälle ließen sich dann zuordnen, wenn durch Zeugenaussagen und polizeiliche Recherchen sichergestellt war, daß die Betroffenen bis zu zwei Stunden überlebt haben.

Überlebenszeiten von 9 Fällen zwischen 2 - 5 Stunden fassen wir in der dritten Gruppe zusammen. Diese Gruppe war von großem Interesse, da erste histochemische Veränderungen in den Ganglienzellen von COLMANT (4) beschrieben waren.

Die nächste Gruppierung fasst 3 Verletzte mit Überlebenszeiten zwischen 5 - 10 Stunden zusammen.

Die fünfte Gruppe mit 4 Verletzten und einer Überlebenszeit zwischen 10 - 24 Stunden beschließt die Gruppen mit Stundeneinteilung. Die verminderte Patientenzahl, die in diesen beiden letztgenannten Gruppen Eingang gefunden hat, läßt sich möglicherweise durch klinische Krisen vor und nach diesem Zeitraum erklären, so daß Überlebenszeiten dieser Größenordnung selten sind.

Vier Patienten überlebten das Trauma 1 - 2 Tage und werden in der Gruppe 6 zusammengefaßt.

Weitere 6 Fälle werden in der 7. Gruppe beschrieben und überlebten damit 2 - 4 Tage.

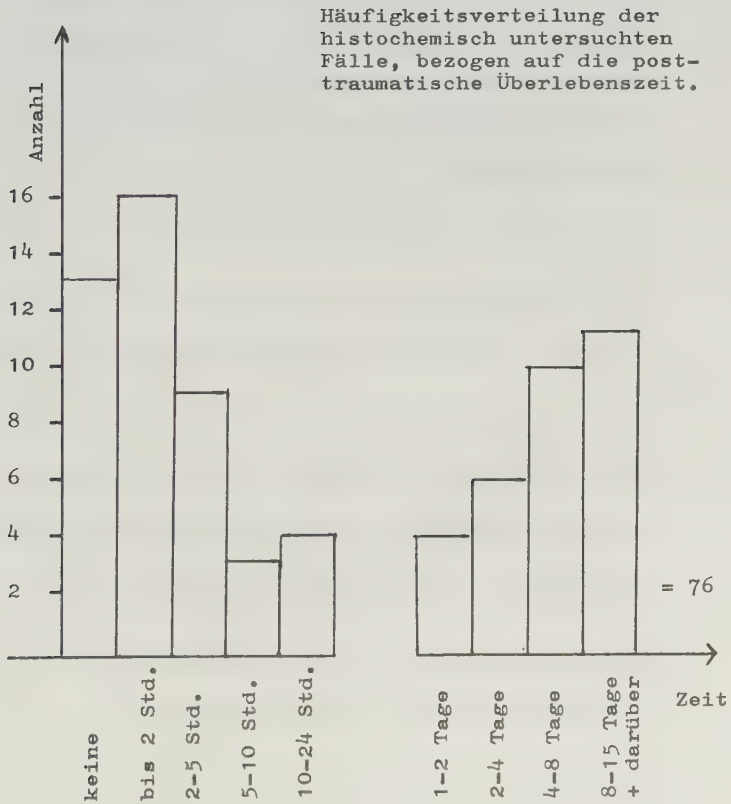
Die Gruppe 8 beschreibt Überlebenszeiten von 10 Patienten zwischen 4 - 8 Tage.

Die letzte Gruppe, Gruppe 9, faßt Überlebenszeiten von 8 - 15 Tagen und darüber zusammen.

Diese Gruppe bildet bewußt die Letzte, da spätere Veränderungen schon beschrieben waren (22, 30, 38) und in dieser Arbeit nicht mehr von wesentlichem Interesse waren.

Eine Gruppeneinteilung bezüglich der Latenzzeiten zwischen Trauma und Tod ist in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1



3.4.0. Bei der Anfärbung von gesundem Hirngewebe mit der sPH können wir als Normalbefund ein relativ schwach gefärbtes Neuropil feststellen, während sich das Mark mit Oligodendroglia und dicken Axonen stärker anfärbt als die Rinde. Das Nervenzellcytoplasma zeigt eine deutliche (sPH) Aktivität, wobei die Kerne ausgespart sind. Die Glia selbst ist kaum dargestellt, Kapillaren färben sich ebenso kaum an.

3.4.1. Gruppe 1

Bei der makroskopischen Betrachtung der Präparate ist keine Abschwächung der Gesamtintensität der Blutungen nachweisbar und Aussparungen der Blutungen entsprechen genau denen im Nativpräparat. Unter dem Blick im Mikroskop sind die Aussparungen der Blutungen in der Gesamtaktivität scharf abgegrenzt. Im Zentrum der Blutungen sind die Nervenzellen z. T. völlig unauffällig, z. T. ist aber auch die Aktivität etwas abgeschwächt. Eine Aktivitätszunahme in den Nervenzellen kann objektiv nicht festgestellt werden, obwohl oft subjektiv der Eindruck entsteht, was aber wohl eine Frage stärkerer färberischer Kontraste ist.

3.4.2. Gruppe 2

Wird das Trauma eine oder zwei Stunden überlebt, so ist auch hier in der Regel kein Aktivitätsverlust in dem die Blutung umgebenden Neuropil festzustellen. Lediglich in einem einzigen Fall bei dem mehrere große Blutungen eng benachbart auf den Windungskuppen sind, zeigt sich bereits eine leichte Aufhellung als Zeichen einer Aktivitätsverminderung im infiltrierten Blutungsrand. Nervenzellen, die Anhaltspunkte für eine direkte traumatische Schädigung bieten, finden sich ebenfalls in einigen Fällen.

Sie färben sich blasser an, als die Nervenzellen in den unverletzten Bezirken. Im großen und ganzen entsprechen die Befund jedoch denen der ersten Gruppe.

3.4.3. Gruppe 3

Eine Veränderung in qualitativer oder quantitativer Hinsicht gegenüber der vorigen Gruppe findet sich nicht.

3.4.4. Gruppe 4

Eine deutliche Abgrenzung einer Aktivitätsveränderung wird zum erstenmal bei Überlebenszeiten zwischen 5 - 10 Stunden deutlich. Bei allen untersuchten Präparaten bilden sich hellere Randsäume verminderter Anfärbbarkeit um die Blutungen, die zumeist auch mit dem "unbewaffneten" Auge zu erkennen sind. Im Zentrum der Blutungen können keine dem Normalbefund entsprechenden Nervenzellen nachgewiesen werden, während sich in dem eben beschriebenen Randsaum auch bei dieser Überlebenszeit immer noch unveränderte Nervenzellen darstellen lassen. Die Aktivitätsabschwächung im Neuropil am Blutungsrand ist in ihrer Ausdehnung abhängig von der Größe der Blutungen. Handelt es sich um einzelne und größere Blutungen, so stellen sich schmale aber sehr deutliche Aufhellungen dar. Bei mehreren und zugleich kleineren Blutungen ist der Aktivitätsverlust jedoch eher großflächig.

3.4.5. Gruppe 5

Nach 24 Stunden Überlebenszeit zeigen sich in keinem Präparat, weder im Zentrum der Blutungen, noch im angrenzenden blassen Randsaum, dem Normalbefund entsprechend, anfärbbare Nervenzellen. Die Schädigung der Nervenzellen in den Blutungszentren ist sogar noch stärker ausgeprägt, oft sind diese Nervenzellen nur noch schemenhaft darstellbar. Im gesunden Neuropil, bis hin an den blassen Randsaum, lassen sich Nervenzellen noch erkennen.

3.4.6. Gruppe 6

Auch bei Überlebenszeiten zwischen 1 - 2 Tage sind die Befunde den eben beschriebenen vergleichbar. Lediglich die Nervenzellen im Blutungszentrum sind noch stärker geschädigt, manchmal nur noch schemenhaft erkennbar.

3.4.7. Gruppe 7

Bei Präparaten dieser Gruppe fällt eine Art qualitative Veränderung auf. Am Rande der Blutungen oder des beschriebenen Randsaumes sieht man Nervenzellen, deren Aktivität im Zelleib an den Rand gedrängt und verstärkt ist. Bevorzugt erscheint hier die Stelle des Axonabganges. Astrozyten weisen, wenn sie darstellbar sind, eine leichte Enzymaktivitätssteigerung auf.

Der Gesamtbefund jedoch gleicht jedoch dem der beiden vorausgehenden Gruppen.

3.4.8. Gruppe 8

In dem die Blutung umgebenden Randsaum, dessen Größe von der Ausdehnung der Blutung abhängt, ist jetzt eine sehr deutliche Aktivitätsabschwächung erkennbar. Nervenzellen können auch jetzt nicht mehr dargestellt werden. Der Randwall, der den Randsaum zum gesunden Neuropil hin abgrenzt, besteht aus Abräumzellen und Astrozyten. Auch in einiger Entfernung von den Blutungen besteht immer noch eine deutliche Verminderung der Färbbarkeit des Neuropils und der Nervenzellen. An dieser Zone verminderter Färbbarkeit stoßen wir jedoch im gesunden Neuropil mehrfach auf aktivierte Nervenzellen.

In 3 Fällen sind, in der Molekularschicht am Rande von Windungstälern, die Astrozyten sehr kräftig angefärbt. Bei einem Präparat sehen wir denselben Befund in dem routinemäßig mit angefärbten korrespondierenden unverletzten Hirnteil, wohl als Äquivalent des Hirndruckes.

3.4.9. Gruppe 9

Der Randwall, der sich um die Randzone unvollständiger Nekrose mit Untergang der Nervenzellen gebildet hat, nimmt nun sehr deutlich Enzymaktivität an. Eine weitere Aktivitätsabnahme ist in den entfernter gelegenen Nervenzellen darstellbar.

Überleben die Geschädigten das Trauma um mehr als eine Woche, so sind die Befunde weiterhin mit den oben erwähnten vergleichbar. In den Randwallbildungen sind eingesproßte Gefäße ohne wesentliche Aktivität. Außerhalb der Verletzungsbezirke finden sich auch Anhäufungen grobgranulärer Aktivität in rundlichen Zellen, bei denen es sich vermutlich um Makrophagen handelt. Wie wir ja wissen, werden z. B. Fettkörnchenzellen aus dem ursprünglichen Blutungs- oder Verletzungsbezirk mobilisiert, so daß hier eine mögliche Zuordnung zu treffen wäre.

3.5.0. Mit der aPH gelingt besonders die Darstellung der Kapillaren und Gefäße im Hirngewebe. Dem Normalbefund entspricht ein, örtlich leicht wechselnd, insgesamt aber recht schwach anfärbbares Neuropil. Die Aktivität der Nervenzellen ist, wenn überhaupt vorhanden, sehr schwach. Eine besonders hohe Aktivität findet man an den Arteriolen und den arteriellen Schenkeln der Kapillaren, sowie in allen Ventrikelwandungen und in den weichen Häuten. Ebenso spielt nach RAEKALLIO (26) die aPH besonders bei den Vorgängen eine Rolle, die prinzipiell der Regeneration nahe stehen. Durch die unterschiedliche Gefäßversorgung von Mark und Rinde kann man mikroskopisch schon eine Trennung dieser Gebiete vornehmen.

3.5.1. Gruppe 1

Bei sofortigem Tod sind Blutungen, Aussparungen oder Aktivitätsabnahme mit dem unbewaffneten Auge auf dem Präparat nicht zu erkennen. Anders jedoch bei mikroskopischer Betrachtung. Die Blutungen sind in der Gesamtintensität zumeist ausgespart, sonst aber schwächer angefärbt. An den Gefäßen in dem Rindenprellungsherd sind mit Ausnahme eines einzigen Falles keine Veränderungen bemerkbar. Bei diesem einen Fall ist eine diskrete Enzymaktivitätsabschwächung erkennbar. Hier sind die Blutungen jedoch sehr groß und auf den Windungskuppen sehr eng zusammenliegend. Es liegt jedoch kein eigentlicher Aktivitätsschwund vor, da die Aussparungen in der Intensität reine Verdrängungsfolgen sind.

3.5.2. Gruppe 2

Nach zwei Stunden Überlebenszeit sind weiterhin keine objektivierbaren Aktivitätsveränderungen sichtbar. Zu Beginn der Untersuchungsreihen hatten wir Probleme bei der Beurteilung der unterschiedlich stark angefärbten Gefäße. Nach unserem Dafürhalten liegt dieser Unterschied jedoch in der färbereichen Schwankungsbreite.

3.5.3. Gruppe 3

Nach 3 - 5 Stunden Überlebenszeit läßt sich, zunächst bei größeren, dann ab der 5. Stunde bei kleineren Blutungen, eine abgeschwächte Gefäßanfärbbarkeit in den Blutungsherden erkennen. Die quantitative Abnahme der Intensität ist jedoch schwierig zu beurteilen, weil sie nicht objektivierbar ist. Die Beurteilung der Aktivitätsabnahme einzelner Gefäße ist nicht sinnvoll, weil dadurch der Vergleich zur Normalaktivität verloren geht. Um die Kontinuität des Bildes zu erhalten, beurteilen wir grundsätzlich das gesamte Präparat und erhalten somit den Gesamteindruck, aus dem wir unser Urteil bilden.

3.5.4. Gruppe 4

Bei der Gruppe 3 zunächst aufgetretene, diskrete Enzymaktivitätsverlust, ist in dieser Gruppe nun sehr deutlich geworden. Handelt es sich um mehrere kleine Blutungen, so sind die Gebiete des Aktivitätsverluste etwas größer als bei den etwas größeren Einzelblutungen.

Hier sind oft nur Gefäße der unmittelbaren Nachbarschaft betroffen. Starke Aktivitätsverluste stellen sich nach 10 Stunden Überlebenszeit dar. Eine Beurteilung der Aktivität am Neuropil ist weiterhin wegen der blassen Anfärbung nicht möglich, da subjektiv keine Farbkontraste fassbar sind.

3.5.5. Gruppe 5

Wurde das Trauma bis zu 24 Stunden überlebt, ändert sich weder qualitativ noch quantitativ etwas gegenüber den Befunden der vorigen Gruppe.

3.5.6. Gruppe 6

In dieser Gruppe mit Überlebenszeiten zwischen 1 - 2 Tagen, kommt es zum erstenmal vor, daß sich in den Blutungszentren keinerlei Gefäße darstellen lassen. Färben sich dennoch Gefäße an, so lediglich nur schemenhaft.

Im Neuropil sehen wir in einem Falle diffus verteilt eine bräunliche Färbung in feingranulärer Form am Rande der Blutungen.

3.5.7. Gruppe 7

2 - 4 Tage nach dem Trauma bietet sich immer noch das gleiche Bild wie in der vorigen Gruppe. Eine gleichartige Beobachtung bezüglich des Neuropils machen wir hier allerdings nicht.

3.5.8. Gruppe 8

In dieser Gruppe mit Überlebenszeiten bis zu 8 Tagen stellen wir in dem, bei der SPH schon beschriebenen, Randwall eine staubförmige Aktivitätszunahme fest, was auf die Einsprossung von Kapillaren schließen läßt. Desweiteren war auch eine Aktivitätssteigerung in Gefäßen außerhalb des Blutungsbezirkes vorhanden. Die Gefäße erscheinen hierbei dickwandiger und rundlicher. In zwei Fällen sind auch granuläre Aktivitätsmuster um die Gefäße vorhanden.

3.5.9. Gruppe 9

Haben die Verletzten bis zu 10 Tagen und darüber überlebt, befindet sich der Rindenprellungsherd also im Stadium der Resorption und Organisation, so sind die Gefäßneubildungen in dem Randwall durch die Aktivitätszunahme dort deutlich erkennbar. Astrozyten und Abräumzellen sind noch kaum anfärbbar. Nach zwölf Tagen tauchen zwischen den Gefäßneubildungen auch hellbraun gefärbte diffus verteilte Enzymaktivitäten auf. In solchen Zellen, die nach FRIEDE (7) Astrozyten sein sollen und um die Gefäße gruppiert liegen, ist ebenfalls Enzymaktivität nachweisbar.

Bei längeren Überlebenszeiten, wobei auch die Fallzahl stark abnimmt, treten die Gefäßwucherungen in dem Randwall immer deutlicher hervor. Eine Rückbildung von Veränderungen können wir nicht mehr beobachten.

Diskussion

4.0. Die bisher vorliegenden histologischen Untersuchungen in der Neuropathologie über Hirnverletzungen sind sehr ausführlich; was zeitliche Grenzwerte anbetrifft, sind sie jedoch eher karg. Man findet zwar Einzelbeobachtungen, die meist auf klinischen oder pathologisch anatomischen Fragestellungen ausgerichtet sind. Es sei jedoch hier erwähnt, daß sich diese in der Literatur beschriebenen Einzelbeobachtungen manchmal sogar widersprechen.

4.1. Die eigenen Untersuchungen wollen mit standardisierten Routinemethoden, wie sie heutzutage an den meisten gerichtsmedizinischen Instituten üblich sind, die vorliegenden Ergebnisse unter der speziellen Fragestellung der Grenzwertbildung ordnen, eigene enzymhistologische Untersuchungen an den vorliegenden Ergebnissen messen, und eine neue Möglichkeit der Wundalterbestimmung von Rindenprellungsherden eröffnen.

4.2. Primär, bei der Untersuchung des Obduktionsmaterials ist jedoch die Frage, ob die Verletzung vital oder postmortal entstanden ist. Erstes Zeugnis dieser wichtigen forensischen Fragestellung liefert die chinesische Schrift "SI - YUEN - LUH" aus dem Jahre 1248. Auch PLENK stellte 1786 die Beantwortung dieser Frage in den Mittelpunkt der Lehre vom gewaltsamen Tod. Die exakte Beantwortung dieser Frage ist stets schwierig. Dies liegt daran, daß sich das forensische Interesse in der Regel auf einen recht kurzen Zeitraum vor und nach dem Tode begrenzt, daß andererseits der Eintritt des Todes nicht als Zeitpunkt, sondern als Zeitraum aufgefaßt werden muß.

Die bisher allgemein vertretene Auffassung, daß Blutungen im ZNS immer vitale Reaktionszeichen darstellten, muß nach den Versuchen von NAEVE und BAUSE (20) teilweise revidiert werden.

Bei experimentell hergestelltem Trauma am Schädel von Leichen konnten bei 4 von 30 Fällen makroskopisch subkortikale bzw. zentral lokalisierte "Kontusionsblutungen" gefunden werden. Eine Täuschungsmöglichkeit ist also durchaus gegeben, wenn auch die Autoren eine mikroskopische Unterscheidungsmöglichkeit solcher postmortalen Blutungen von vitalen Blutungen bejahen. So sind z. B. noch nie Kompressionsformen der Nervenzellen ohne vitale Verletzung beschrieben worden. Bei Auftreten der genannten Veränderungen kann also davon ausgegangen werden, daß eine vitale Veränderung vorliegen muß.

4.3. Die Latenzzeit zwischen Tod und Sektion hätte theoretisch nach den Untersuchungen von LINDENBERG von Belang sein können, nachdem dieser postmortale bzw. supravitale Veränderungen der Nervenzellen im Sinne hypoxämischer Nervenzellschädigungen sah. Bei Rindenprellungsherden scheint diese Hypoxämie der Nervenzellen sekundärer Natur zu sein, weil die Ausprägung des morphologischen Bildes von diesem Parameter wenig beeinflusst war.

4.4.1. An die Darstellung der sPH waren wegen der Beobachtung von COLMANT (4) besondere Erwartungen geknüpft, da nach seinen Untersuchungen beim hypoxämischen Schaden die sPH als erstes Enzym reagierte. Auch bei unseren Untersuchungen zeigt sich, daß mit Hilfe der sPh relativ frühe Veränderungen in Rindenprellungsherden zu erfassen sind. Das Enzym, das PIOCH und RAEKALLIO (25, 26) ebenfalls bei ihren Untersuchungen verwenden, ist beim aktiven Jonentransport durch die Zellmembran, bei der Phagozytose und der Wundheilung an der Haut beteiligt. COLMANT (4) berichtet, daß sofort nach Eintritt der Verletzung Aktivitätsveränderungen im Neuropil im Sinne einer Abschwächung eintreten, wobei die verminderte Anfärbbarkeit erst im Seitenvergleich erkennbar ist.

ANDERSON et al. (1) berichten bei Untersuchungen ischämischer Schädigungen des Kortex mit der sauren Phosphatase über eine reduzierte Anfärbbarkeit der Nervenzellen, sowohl am menschlichen Obduktionsmaterial wie auch im Tierexperiment.

FRIEDE (7) beschreibt, daß in proliferativ veränderter Mikroglia eine Zunahme der Aktivität ein-trete. Zugleich käme es zu einer Verklumpung der Aktivitätsmuster in den Nervenzellen, die auf eine Störung der Lysosomen zurückzuführen sei.

4.4.2. Bei unseren Untersuchungen zeigen sich in der Tat bei sofortigem Tod bei einigen Fällen mit größeren Blutungen Nervenzellen vermindert anfärbbar. Mechanische Schädigungen der Nervenzellen sind gut erkennbar. Bei Überlebenszeiten bis zu einer Stunde sieht man bisweilen im Perikaryon eine Art klumpige Zusammenballung von Aktivität, und im Infiltrationsbereich der Blutungen sind ebenfalls schwach angefärbte Nervenzellen anzutreffen. Eine Abschwächung der Aktivität im Neuropil taucht erstmals nach mehr als 6 Stunden Überlebenszeit auf, wobei in allen Fällen der Gruppe 4, wie beschrieben, die Nervenzellen vermindert anfärbbar sind. Bei fast allen untersuchten Präparaten mit entsprechender Überlebenszeit bilden sich hellere Randsäume verminderter Anfärbbarkeit aus.

Nach 2 - 4 Tagen kann man in den Nervenzellen eine Enzymverteilung dahingehend feststellen, daß vermehrte Aktivität am Axonabgang liegt und auf der Gegenseite kaum Aktivität nachweisbar ist. In demselben Zeitraum heben sich erstmals durch eine Aktivitätszunahme Astrozyten ab.

Ab dem 4. - 6. Tag ist in dem Randwall aus Astrozyten und Abraumzellen eine starke Aktivitätszunahme zu vermerken. COLMANT (4) beobachtet ebenfalls einen Randsaum, und beschreibt ihn als Demarkationslinie zwischen Nekrose und Neuropil, und beobachtet diesen bei hypoxämischen Nervenzellschäden schon ab dem 3. Tage.

Nach 6 Tagen Überlebenszeit ergeben sich bei längerem Überleben eigentlich keine qualitativen Gesichtspunkte mehr. Quantitative Veränderungen sind bis 10 Tage Überlebenszeit und darüber kontinuierlich feststellbar.

4.4.3. Die sPh eignet sich also, wie dargestellt, besonders gut, um Reaktionen der Nervenzellen zu erfassen. Eine Aktivitätszunahme kann man sehr gut erfassen, desweiteren erhält man Einblick in die Vorgänge, die man am besten mit "dem Kampf um's Überleben" der Nervenzellen umschreiben kann. Die sPh ist auch eine gute Erweiterung zur Histologie am Gehirn, man kann sie auch ganz speziell bei der Abklärung der vitalen Reaktion einsetzen. Die Artefaktanfälligkeit ist zudem sehr gering, die Nachweismethode wegen der häufigen Untersuchung dieses Enzyms sehr gut standartisiert.

4.5.1. Wie auch schon eingangs erwähnt, gelingt mit der aPh vorwiegend eine Darstellung der Gefäße im Hirngewebe. FRIEDE, KREUTZBERG, SHIMIZU und COLMANT (7, 14, 28, 4) berichteten ebenfalls bei ihren Untersuchungen über Enzymreaktionen der aPh im Gehirn.

FRIEDE (7) berichtet, daß sich die aPh Aktivität der Gefäße auch unter pathologischen Bedingungen wenig ändere. Er nennt als Beispiel die gleichbleibende oder nur leicht erhöhte Aktivität in den Kapillaren von Infarktgebieten.

Desweiteren berichtet er, daß auch nach zueinander eng lokalisierten Schädigungen der Hirnrinde durch Nadelstiche die Aktivität in den Gefäßen erhalten bleibe, während das Neuropil eine frühzeitige Herabsetzung der Aktivität zeige.

Traumatische Hirngewebsläsionen werden von KREUTZBERG und PETERS (14) untersucht. Sie berichten, daß in den Kapillaren des Reparationsgebietes die aPh Aktivität nach 2 - 7 Tagen zunimmt.

COLMANT (4) findet bei seinen experimentell hervorgerufenen Ischämien Aktivitätsverluste der aPh im Neuropil bereits nach 16 Stunden und nach 48 Stunden regelmäßig eine Zunahme der Aktivität in den kleinen Gefäßen im Herdbereich. Diese Aktivitätszunahme beobachtet er noch 4 Monate nach dem Experiment.

SHIMIZU (28) u. a. setzen Stichwunden in den Cortex von Katzen und untersuchen die Befunde ab 6 Stunden bis 21 Tagen. Sie unterscheiden, ähnlich wie RAEKALLIO (26) an den Hautwunden, eine konzentrische Wundzone, eine innere und äußere Verletzungszone und eine normale Schicht.

Dabei sehen sie im Wundbereich eine deutliche Verminderung der Aktivität der aPh an Gefäßen und Neuropil. Nach 3 Tagen kommt es zu einer leichten Aktivitätszunahme in der inneren Wundzone und zu einer deutlichen Zunahme in der äußeren.

4.5.2. Bei unseren Untersuchungen läßt sich nach einer Stunde eine diskrete Enzymabnahme der aPh im Zentrum der Blutungen nachweisen, die sich nach 10 Stunden Überlebenszeit am deutlichsten darstellt. Neben abgeschwächt angefärbten Gefäßen stellen sich auch noch normale und unveränderte Gefäße dar. Nach spätestens 1 - 2 Tagen Überlebenszeit sind dann auch diese bisher noch unveränderten Gefäße von einer Aktivitätsabschwächung betroffen. Nach 2 Tagen dann, lassen sich im weiteren Verlauf bei den ersten Präparaten gar keine Gefäße mehr darstellen. Nach 5 - 6 Tagen, bei einigen wenigen Präparaten schon nach 4 Tagen Überlebenszeit, ist erstmals eine Aktivitätssteigerung außerhalb der Blutung in Gefäßen feststellbar. Meist handelt es sich hier um einsprossende Kapillaren in den Randwall um die Blutungen herum.

Ab dem 8. Tag sehen wir dann einen deutlichen Randwall mit Astrocyten und Gefäßwucherungen, und in jedem Fall proliferierte Wandzellen. Ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal für die weitere Differenzierung, das bisher in der uns vorliegenden Literatur nicht angesprochen wurde, ist die Form der gewucherten Gefäße. Ab dem 8. Tag nämlich findet man noch ganz zarte Kapillaren, die von anderen Gefäßen nur durch Größe und Gestalt der Gefäßwandzellen abweichen. Nach 9 - 10 Tagen Überlebenszeit werden die gewucherten Kapillaren und Gefäße immer plumper und das Lumen wird zunehmend enger. Ab dem 12. Tag schließlich lassen sich keine schlanken Gefäßwucherungen mehr nachweisen.

Die zitierten Autoren berichten übereinstimmend von einem Höhepunkt der Wucherungen in der 4. Woche. Dies scheint uns jedoch nicht ganz richtig, denn nach unseren Feststellungen ist das Maximum der Gefäßreaktionen zwischen der 2. und 4. Woche. Bereits nach 26 Tagen sehen wir schon wieder einen Rückgang der Wucherungen und den Übergang zur Ausbildung von Bindegewebe.

4.5.3. Die Gefäßveränderungen, die sich mit Hilfe der aPh darstellen lassen, sind als Beurteilungskriterium in der Resorptionsphase von großem Gewicht und guter Aussagekraft, wobei insbesondere das Einsetzen der Proliferation der Gefäßwandzellen und die verschiedenen Wucherungsformen gute Abgrenzungen zulassen. Allerdings muß man dabei berücksichtigen, daß die Unterteilung in schlank und plump rein subjektiven Merkmalen unterworfen ist.

Es bleibt deshalb als Lösung dieser Schwierigkeit nur, daß man sich einen guten Standard für diese Beurteilung zulegt.

Nach den hier beschriebenen Ergebnissen halten wir die Anwendung der aPh bei Altersbestimmungen gedeckter Hirntraumen als durchaus sinnvoll, nicht auch zuletzt deshalb, weil die aPh bei der Färbung ein relativ unproblematisches Enzym ist, d. h. die Artefaktanfälligkeit sehr gering ist. Zumindest stellt diese Färbung eine wertvolle Ergänzung zu der anderen Untersuchungsreihe dar.

4.6. Fasst man abschließend die gewonnenen Ergebnisse zusammen, so erkennen wir, daß die Erwartungen, die wir in die Enzymhistochemie gesetzt hatten, nicht in vollem Umfange erfüllt wurden. Ursache dafür ist, daß die Grenzwertüberlegungen in der mikroskopischen Beurteilung praktisch nur auf qualitative Veränderungsmerkmale abgehoben werden können. Die Feststellung einer verstärkten oder verminderten Anfärbbarkeit ist zu sehr subjektiven Kriterien unterworfen, als daß sie den Grenzwertforderungen in foro entspräche. Trotzdem aber ergeben sich eine ganze Anzahl von zusätzlichen Gesichtspunkten zur Altersbestimmung von Rindenprellungsherden. Zur praktischen Anwendung bei der Altersbestimmung gedeckter Hirnrindenverletzungen sind in der Tabelle 2 enzymhistochemische Kriterien, die sich zur Grenzwertbestimmung eignen, zusammengestellt.

aPh

	<u>erstes Auftreten</u>	<u>stetiges Auftreten</u>
abgeschwächte Färbbarkeit der Gefäße in den Blutungs- zentren	sofortiger Tod	4 - 6 Std.
deutlich ver- minderte Färb- barkeit der Gefäße in der inneren Wund- zone	10 Std.	24-48 Std.
völliger Schwund der Anfärbbar- keit von Ge- fäßen	24-48 Std.	-
Aktivitätszu- nahme in der Pia mater	24-48 Std.	-
deutliche Ge- fäßwucherung	8. Tag	-

Tabelle 2

sPh

	<u>Erstes Auftreten</u>	<u>Stetiges Auftreten</u>
verminderte Aktivität der Nervenzellen im Blutungs- zentrum	sofortiger Tod	6 - 12 Std.
aufgehellte Randsäume um die Blutungen	1 - 2 Std.	6 - 12 Std.
abgeschwächte Aktivität der Nervenzellen im Randsaum	6 - 12 Std.	-
Nervenzellen- schwund im Randsaum der Blutungen	4 - 6 Tage	-
Randwallbil- dung (äußere Wundzone)	4 - 6 Tage	-
Auftreten aktivierter Nervenzellen	4 - 6 Tage	-

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ANDERSON, P.J. und : Acid phosphatase in
S.K. SONG the nervous system,
J. Neuropath. exp.
Neurol. 1962
2. ARNOLD, M. : Histochemie: Ein-
führung in Grundlagen
und Prinzipien der
Methoden
Springer Verlag,
Berlin Heidelberg
New York, 1968
3. CHASON, J.L. : Enzymhistochemistry
in postmortem nervous
system, in: Neuro-
patholog.-Methods and
Diagnosis
4. COLMANT, H.J. : Zerebrale Hypoxie
Thieme Verlag, Stuttgart,
1965
5. DOUGHERTY, M. : sur l'état vermoulu
de l'écorce cérébrale
Rev. neurol. 1904
6. FISCHER, H. und : Pathologie des Trauma
W. SPANN Berbmann Verlag,
München 1967

7. FRIEDE, R.L. : The cytochemistry of
normal and reactive
astrocytes
J. Neuropath. Exp.
Neurol. 1962

8. Handbuch der : Hrsg. W. Graumann und
Histochemie K. H. Neumann
Fischer Verlag,
Suttgart 1958 - 1976

9. KANIG, K. : Einführung in die all-
gemeine und klinische
Neurochemie
Fischer Verlag,
Suttgart 1973

10. KATZENSTEIN, E. : Das Schädelhirntrauma
Schwabe, Basel 1956

11. KESSL, F., GUTTMANN, L. : Neurotraumatologie
und G. MAURER Band I, die frischen
Schädelhirnverletzungen
Urban und Schwarzenberg,
München 1969

12. KOZIG, M. : Histochemistry of
neuronal degenerativ
changes
J. Hirnf. 1975

13. KRAULAND, W. : Über die Zeitbestimmung
von Schädelhirnverletzungen
Beitr. gerichtl. Med. 1973

14. KREUTZBERG, G.W.
und G. PETERS : Enzymhistochemische Beobachtungen beim experimentellen Hirntrauma der Ratte
Extrait du Livre jubilaire du Dr. Ludo van Bogaert
1962
15. LINDENBERG, R.
und W. NOELL : Über die Abhängigkeit der postmortalen Gestalt der Astrocyten von praemortalem bioelektrisch kontrolliertem Sauerstoffmangel
Dtsch. Z. Nervenheilkunde
1952
16. LINDENBERG, R.
and E. FREYTAG : Morphology of cortical contusions
Arch. Path. 1957
17. LOJDA, Z.,
R. GOSSRAU und
F. H. SCHIEBLER : Enzymhistochemische Methoden
Springer Verlag, Berlin
Heidelberg New York
18. LUND, O. E. : Spätvorgänge im Bereich alter offener Hirnverletzungen
Dtsch. Z. Nervenheilkunde
1956
19. MARIE, P. : état vermoulu du cerveau
Rev. neurol. 1905
20. NAEVE, W. und
H. W. BAUSE : Experimentelle postmortale Kopf- und Hirnverletzungen
Z. ges. gerichtl. Med. 1974

21. PEARCE, A.G.E. : Histochemistry theoretical and applied Churchill Livingstone, London 1972
22. PETERS, G. : Die Hirnverletzungen in: Neurotraumatologie, Hrsg.: Kessl, Guttman, Maurer Urban und Schwarzenberg, München 1969
23. PETERS, G. : Klinische Neuropathologie Thieme Verlag, Stuttgart 1970
24. PETERS, G. : Die gedeckten Gehirn- und Rückenmarksverletzungen in: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Band XIII, 3 Springer Verlag, Berlin Göttingen New York 1955
25. PIOCH, W. : Die histochemische Untersuchung thermischer Hautschäden und ihre Bedeutung für die forensische Praxis Band 5 der Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik, Schmidt Römhild Lübeck 1966, Hrsg.: E. Weinig und S. Berg
26. RAEKALLIO, J. : Die Altersbestimmung mechanisch bedingter Hautwunden mit enzym-histochemischen Methoden in: Arbeitsmethoden der med. und naturwissenschaftlicher Kriminalistik, Hrsg. E. Weinig u. S. Berg

27. RUBINSTEIN, L.J.
KLATZO, J. and
MIQUEL
: Histochemical observations
on oxidative enzyme activity
of glial cells in a local
brain injury
: J. Neuropath.exp.Neurol.1962
28. SHIMIZU, N. and
H. JORIAKI
: Deposition of glycogen and
changes in some enzymes in
brain wounds
Nature 1958
29. SPATZ, H.
: Über die Erkennbarkeit der
Rindenkontusion im Endzu-
stand in anatomischer und
klinischer Hinsicht
ZBI Neurol. Psychiat. 1931
30. SPATZ, H.
: Pathologische Anatomie der
gedeckten Hirnverletzung mit
besonderer Berücksichtigung
der Rindenkontusion
ZB1 Neurol. Psychiat. 1930
31. SPATZ, H.
: Anatomie der gedeckten und
offenen Hirnschädigungen
ZB1 Neurol. Psychiat. 1951
32. SPATZ, H.
: Von der Morphologie der Ge-
hirnkontusionen (besonders
der Rindenprellungsherde)
Münch. Med.Wschr. 1951
33. TAKAMATSU, H.
: Histochemische Untersuchungen
der Phosphatase und deren
Verteilung in verschiedenen
Organen und Geweben
Trans. Soc. Path. Jap. 1939

34. UNTERHARNSCHIEDT, F. J. : Die traumatischen Hirnschäden
Mechanogenese, Pathomorpho-
logie und Klinik
Z. Rechtsmed. 1972
35. WALCHER, K. : Über die vitale Reaktion
Dtsch. Z.ges.ges. Med. 1930
36. WELTE, E. : Über die Zusammenhänge zwischen
anatomischem Befund und klini-
schem Bild bei Rindenprellungs-
herden nach stumpfem Schädel-
trauma
Arch. Psych. Nervenkr. 1948
37. WINCKLER, J. : Verwendung gefriergetrockne-
ter Kryostatschnitte für histo-
logische und histochemische
Untersuchungen.
Histochemistry 1970
38. ZOLLINGER, H., U. : Pathologische Anatomie, Band I
Allgemeine Pathologie
Thieme Verlag, Stuttgart 1969
39. K. J. ZÜLCH,
F. FISCHGOLD und
E. SCHERZER : Beiträge zur Neurochirurgie
Elektroenzephalographie und
Trauma in ihrer akuten Phase
Joh. Ambrosius Barth Leipzig '67

LEBENS LAUF

Am 25. Juni 1950 wurde ich als drittes Kind meiner Eltern, dem Augenarzt Dr. med. Wilhelm Neuhaus und seiner Ehefrau Irmingard Neuhaus, geb. Zieglwallner, in München geboren.

Mit sechs Jahren besuchte ich die Volksschule an der Wilhelmstr. in München, welche ich dann vier Jahre später, 1960, verließ, um das Gymnasium des Jesuitenkollegs "Stella Matutina" in Feldkirch, Vorarlberg, in Österreich zu besuchen. 1964 kam ich dann nach München zurück, um dort sieben Jahre später am Nymphenburger Gymnasium das "eugnis der Reife zu erhalten.

Nach erfolgter Zulassung zum Studium der Humanmedizin, immatrikulierte ich mich an der Ludwig Maximilians Universität in München.

Nach Erhalt der Approbation im Mai 1978 wandte ich mich an die Augenklinik der genannten Universität, an der ich seit August 1978 als wissenschaftlicher Assistent tätig bin.

